

AH

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-146887

(43)Date of publication of application : 21.05.2003

(51)Int.CI.

A61K 31/722  
A23L 1/30  
A61K 35/56  
A61P 3/04  
A61P 3/06  
A61P 35/00  
A61P 37/04  
A61P 43/00  
C08B 37/08

(21)Application number : 2001-341941

(71)Applicant : GOTO CORPORATION:KK  
KAIZU NOBUHIDE

(22)Date of filing : 07.11.2001

(72)Inventor : GOTO YOSHIO  
KAIZU NOBUHIDE

## (54) FORMULATION AND FOOD AND DRINK HAVING NK CELL- ACTIVATING EFFECT

### (57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To obtain a formulation and food and drink capable of inhibiting and preventing progression of cancers by enhancing immunological potency through activation of NK cells and enhancing resistance to other pathogens and having NK cell activation effect expected to have actions for inhibiting rise of blood cholesterol, preventing fatness and so forth.

**SOLUTION:** The formulation and food and drink of this invention contains chitin and chitosan produced from a  $\beta$ -chitinous substance originating from squid bone as effective ingredients.

### LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 07.11.2001

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2003-146887

(P2003-146887A)

(43)公開日 平成15年5月21日(2003.5.21)

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>  
A 6 1 K 31/722  
A 2 3 L 1/30  
A 6 1 K 35/56  
A 6 1 P 3/04  
3/06

識別記号

F I  
A 6 1 K 31/722  
A 2 3 L 1/30  
A 6 1 K 35/56  
A 6 1 P 3/04  
3/06

テマコード<sup>\*</sup>(参考)  
4 B 0 1 8  
A 4 C 0 8 6  
4 C 0 8 7  
4 C 0 9 0

審査請求 有 請求項の数 2 O L (全 5 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001-341941(P2001-341941)

(22)出願日 平成13年11月7日(2001.11.7)

(71)出願人 397067255  
有限会社ゴトーコーポレーション  
静岡県清水市南矢部765番地の1

(71)出願人 599045408  
海津 暢秀  
東京都世田谷区赤堤2-10-17  
(72)発明者 後藤 芳夫  
静岡県清水市南矢部765番地の1 有限会  
社ゴトーコーポレーション内  
(74)代理人 100082669  
弁理士 福田 寛三 (外2名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 NK細胞活性化作用を有する製剤および飲食品

(57)【要約】

【課題】 NK細胞を活性化することにより免疫機能を増強してがんの進行の抑制及び予防、並びにその他の病原体に対する抵抗性を向上することができ、さらに血中コレステロール上昇抑制、肥満防止などの作用をも期待できるNK細胞活性化作用を有する製剤および飲食情報を提供する。

【解決手段】 本発明のNK細胞活性化作用を有する製剤および飲食情報は、イカ骨由来のβ型キチン質から製造されるキチン・キトサンを有効成分として含有してなる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 イカ骨由来の $\beta$ 型キチン質から製造されるキチン・キトサンを有効成分として含有してなるNK細胞活性化作用を有する製剤。

【請求項2】 イカ骨由来の $\beta$ 型キチン質から製造されるキチン・キトサンを含有してなるNK細胞活性化作用を有する飲食品。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、NK細胞を活性化することにより免疫機能を増強してがんの進行の抑制及び予防、並びにその他の病原体に対する抵抗性を向上することができ、さらに血中コレステロール上昇抑制、肥満防止などの作用をも期待できるNK細胞活性化作用を有する製剤および飲食品に関する。

## 【0002】

【従来の技術】一般に呼ばれているキチン・キトサンとは、カニ・エビなどの殻の構成物質である $\alpha$ 型キチン質をアルカリ処理（脱アセチル化）することにより、体内で吸収しやすい成分にしたものであり、分子量が数1,000から数100万を有するD-グルカンが $\beta$ -1,4結合で重合した天然のアミノ多糖の総称であり、その作用並びに用途について多くの研究、報告がなされている。尚、自然界にはキチンの方の存在量の方がが多いが、キチンをアルカリ処理するとアセチル基が取り除かれ、キトサンが得られる。しかし完全にアセチル基が除去されず、キチン・キトサンの混合物で得られるので、明確に区別しないでキチン・キトサンと並べて呼ばれる。このようなキチン・キトサンは、コレステロール低下作用を有する製剤、健康食品として、或いは人工皮膚（被覆材）、縫合糸、人工透析膜、人工じん帯、人工支柱等の医療材料として、或いは殺虫剤、土壤改良剤等の農業材料として、その他にも化粧品、繊維関係分野などの広範な分野での適用が検討、一部実施されている。

【0003】しかし、一般に研究されているキチン・キトサンとしては、エビ・カニ由来の $\alpha$ 型キチン質を原料としたキチン・キトサンが用いられており、その際、イカ骨由来の $\beta$ 型キチン質を原料としたキチン・キトサンも同一視しているために研究の立ち後れがみられる。即ちイカ骨由来の $\beta$ 型キチン質を原料とするキチン・キトサンはそれ自身公知であるが、キチン・キトサン研究会編「最後のバイオマスキチン、キトサン 1988年刊」に詳細に記載されているようなカニ・エビ由来の $\alpha$ 型キチン質を原料としたキチン・キトサンの様に一般的ではないため、研究が遅れている。近年、イカ骨由来の $\beta$ 型キチン質から製造されるキチン・キトサンについても幾つかの研究、報告がなされ、特開平11-147828号公報には、イカ骨由来の $\beta$ 型キチン質から製造されるキチン・キトサンがカニ・エビ由来の $\alpha$ 型キチンから製造されるキチン・キトサンよりも血中コレステロール上昇

抑制作用が高く、肥満防止などの作用を期待できることが報告されている。また、最近ではイカ骨由来の $\beta$ 型キチン質を原料としたキチンがカニ・エビ由来の $\alpha$ 型キチン質を原料としたキチンよりも容易に脱アセチル化され易く、キトサン化し易く、しかも高分子体で高粘度の物性を有することから容易にフィルム化できるという報告 [Shepherd,R.:NZBA,1995(1995)] もなされている。或いは生体適合性も高いという報告もある。

【0004】一方、ナチュラルキラー(NK)細胞は、生体内で血液中の白血球が変化してできるといわれる免疫機能をつかさどるリンパ球の一種で、生体内に自然に備わったキラー細胞である。そして、このNK細胞は、体内でがん細胞や病原体などを攻撃して除去する機能を果たすため、このNK細胞の活性が高いほど免疫力が強く、がんの進行を抑制（抗がん作用）したり、がんを予防することが期待できることが知られている。したがって、NK細胞を活性化することは、がんの抑制及び予防、並びにその他の病原体に対する抵抗性を向上する目的において、直接的且つ有効な手段ということができる。因みにこのようなNK細胞活性化には、キャベツ発酵エキスを用いた報告や米糠アラビノキシランを用いた報告がなされている。

## 【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明者は、まだ十分に研究されていないイカ骨由来の $\beta$ 型キチン質を原料としたキチン・キトサンが有する特性について鋭意研究の末、NK細胞活性作用の増強効果においてカニ・エビ由来の $\alpha$ 型キチンから製造されるキチン・キトサンと著しい差異が認められたため、本発明を完成するに至った。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】本発明は上記に鑑み提案されたもので、イカ骨由来の $\beta$ 型キチン質から製造されるキチン・キトサンを有効成分として含有してなるNK細胞活性化作用を有する製剤および飲食品に関するものである。即ち本発明者らは、従来いわれているキチン・キトサンのもう一つ免疫増強作用についてカニ殻由来の高分子キチン・キトサン（分子量50万以上）とイカ骨由来の高分子キチン・キトサン（分子量50万以上）とを比較することによってカニ殻由来のキチン・キトサンにはNK細胞活性化作用がないが、イカ骨由来のキチン・キトサンにはNK細胞活性化作用があることを見出した。この発見によってイカ骨由来のキチン・キトサンを経口的に摂取することによってNK細胞活性化を促進するという本発明を完成するに至った。尚、前述のように自然界、即ちイカ骨中にはキチンの存在量が多く、キチンを脱アセチル化してキトサンが得られるのであるが、完全にアセチル基が除去されずにキチン・キトサンの混合物で得られるので、これらに応じて本発明でも明確に区別しないでキチン・キトサンと並べて呼称する。

## 【0007】

【発明の実施の形態】本発明に用いるイカ骨由来の $\beta$ 型キチン質から製造されるキチン・キトサンは一部の製造業者にて既に市場に提供、販売されているので、これを入手、使用するのには全く問題がない。

【0008】本発明のNK細胞活性化作用を有する製剤、飲食品は、イカ骨由来の $\beta$ 型キチン質から製造されるキチン・キトサンを有効成分として含有し、NK細胞活性化作用を損なわない限り他の補助成分を含んでいてもよく、人体に無害なものであればどのような補助成分を添加、併用してもよい。

【0009】また、本発明のNK細胞活性化作用を有する製剤は、具体的に形態を特定するものではなくどのような形態でも良い。例えば打錠製剤とした錠剤としてもよいし、顆粒状とした顆粒剤としてもよく、或いはカプセル剤の内容物として粉末状又は液状で配合したものを作ラチンなどで皮包したカプセル剤としてもよい。同様に、本発明のNK細胞活性化作用を有する飲食品としても、具体的に形態を特定するものではなくどのような形態の飲食物中に粉末状又は液状で配合、混入させるようにしてよい。

【0010】本発明のNK細胞活性化作用を有する製剤の投与量は、イカ骨由来の $\beta$ 型キチン質を原料とするキチン・キトサンとして通常、経口にて0.1～5.0g/60kg体重/日で有効である。尚、イカ骨由来の $\beta$ 型キチン質を原料とするキチン・キトサンは経口で実質的に無毒である。また、飲食品としての摂取目安として、後述する実施例では、実験動物に対する飼料中に10重量%のイカ骨由来のキチン・キトサンを配合したが、これらの結果等から考慮してイカ骨由来のキチン・キトサンを1

#### 【実験用飼料組成】

配合原料	基礎配合	食物繊維群	カニキトサン群	イカキトサン群
小麦粉	20	20	20	20
トウモロコシ粉末	38	38	38	38
大豆粉末	20	20	20	20
小麦フスマ	10	10	10	10
魚 粉	5	5	5	5
骨 粉	1	1	1	1
酵 母	1	1	1	1
食 塩	1	1	1	1
植物油	2	2	2	2
タラ肝油	1	1	1	1
マルチミネラル	1	1	1	1
マルチビタミン	0.1	0.1	0.1	0.1
セルロース		10	10	10
カニキトサン				
イカキトサン				

【0013】(実験方法) 各群の実験動物に3週間の間、各実験飼料と水を自由に摂取させた後、実験動物に苦痛を与えることなく屠殺し、脾臓を取り出して実験に供した。

～50重量%の範囲で用いることが望ましい。

【0011】また、本発明の製剤及び飲食品の有効成分であるイカ骨由来の $\beta$ 型キチン質を原料とするキチン・キトサンが、コレステロールの吸収を阻害し、胆汁酸及び脂質の吸収を阻害することにより、血中コレステロール上昇抑制を果たし、肥満を防止することについては、既に特開平11-147828号公報に詳細に示されている通りである。即ち本発明のNK細胞活性化作用を有する製剤および飲食品は、免疫機能を増強し、がんの抑制及び予防、並びにその他の病原体に対する抵抗性を向上する目的で投与(服用)、摂取する者に、血中コレステロール上昇抑制、肥満防止の作用も果たすことができる。

#### 【0012】

【実施例】〈実験条件〉供試動物として、Wister系雄マウス(18～22前後 SPFグレード)を7日間、固形飼料で予備飼育して実験環境に順化したものを各群10匹に群分けして使用した。尚、固形飼料であるから、固形製剤としても食品としてもみなせる。飼育環境は、温度22±2°C、湿度40～70%RHの環境で飼育した。実験用飼料は、基礎飼料(基礎配合)と、該基礎配合に、それぞれ外割で10重量%のセルロース(食物繊維群)、カニ殻由来の $\alpha$ 型キチン質から製造されたキチン・キトサン(カニキトサン群)、イカ骨由来の $\beta$ 型キチン質から製造されたキチン・キトサン(イカキトサン群)をそれぞれ添加したものを調製し、これを用いた。各実験用飼料の組成を表1に示した。

#### 【表1】

#### ・脾臓細胞の分離

脾臓は、実験動物よりすばやく取り出し、冷HBSS(Hank balanced salt solution)に浸し、脾臓を裁断し脾臓組織を洗浄した。洗浄した脾臓組織をホモジネートし

細胞組織をNytex Filterで濾過しNucleated cellの単細胞suspentionを作成した。作成した細胞はNK細胞Cytotoxicityの測定に使用した。

・NK細胞Cytotoxicityの測定

YAC-1腫瘍細胞に対するNK細胞Cytotoxicityの測定は、3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5diphenyl tetrazolium bromide(MTT)染色で測定した。2 mM Hepes(N-(2-hydroxyethyl)piperazine-N-(2-ethanesulsonic)acid), 2 mM L-glutamine, 50 µg/mL gentamycin sulfate

【測定結果】

実験群	NK細胞Cytotoxicity(10%)
基礎飼料群	38.5±3.71a
基礎飼料+10重量%食物繊維群	46.1±3.99bc
基礎飼料+10重量%カニキトサン群	41.5±7.68ab
基礎飼料+10重量%イカキトサン群	53.0±8.64c

a,b,c,dは、各群の統計的有意差(P<0.05)を表す。

【0015】表2より明らかなように、YAC-1腫瘍細胞に対するNK細胞活性化作用は、基礎飼料群との比較でイカ骨由来のβ型キチン質から製造されたキチン・キトサンを配合した飼料群（イカキトサン群）が統計的有意な活性化作用が認められた。しかし、カニ殻由来のα型キチン質から製造されたキチン・キトサンを配合した飼料群（カニキトサン群）では、従来免疫増強作用効果があるとの報告もあるものの、今回の実験では基礎飼料群と同程度のNK細胞活性効果しか認められないばかりか、食物繊維を配合した飼料群（食物繊維群）との比較でも有意にNK細胞活性効果が低値を示していた。したがって、カニ殻由来のα型キチン質から製造されたキトサンにはNK細胞活性化作用が認められないがイカ骨由来のβ型キチン質から製造されたキトサンには、高分子体であっても経口的な摂取によってもNK細胞活性化作用を有することを発見するに至った。

【0016】

フロントページの続き

(51) Int.C1.<sup>7</sup> 識別記号  
 A 6 1 P 35/00  
 37/04  
 43/00 1 0 7  
 C 0 8 B 37/08

を含んだRPMI-1640の0.1 mMにYAC-1腫瘍細胞を1×10<sup>4</sup>個に調整し、不活性化した胎児性牛血清で10%に調整し96-well plateで培養した。さらに、96-well plate前に脾臓から調整した脾臓細胞を添加した。その96-well plateを5%CO<sub>2</sub>気流中37℃で20時間培養した。この培養した96-well plateをMTT染色しCytotoxicityの%を測定した。

【0014】測定結果を表2に示した。

【表2】

20 【発明の効果】以上説明したように、本発明のNK細胞活性化作用を有する製剤および飲食品は、イカ骨由来のβ型キチン質から製造されるキチン・キトサンを有効成分として含有してなり、NK細胞を活性化することにより免疫機能を増強してがんの進行の抑制及び予防、並びにその他の病原体に対する抵抗性を向上することができる。また、イカ骨由来のβ型キチン質から製造されるキチン・キトサンは、血中コレステロール上昇抑制、肥満防止などの作用を果たすことができる。即ち本発明のNK細胞活性化作用を有する製剤および飲食品は、免疫機能を増強し、がんの抑制及び予防、並びにその他の病原体に対する抵抗性を向上する目的で投与（服用）、摂取する者に、血中コレステロール上昇抑制、肥満防止の作用も果たすことができる。逆に血中コレステロール上昇抑制、肥満防止の目的で服用、摂取する者に、免疫機能を増強し、がんの抑制及び予防、並びにその他の病原体に対する抵抗性を向上する作用を果たすことができる。

F I テーマコード<sup>\*</sup> (参考)  
 A 6 1 P 35/00  
 37/04  
 43/00 1 0 7  
 C 0 8 B 37/08 A

(72) 発明者 海津 暢秀  
 東京都世田谷区赤堤2-10-17

F ターム(参考) 4B018 MD41 MEO2 ME04 ME08  
4C086 AA01 AA02 EA23 MA01 MA04  
NA14 ZA70 ZB09 ZB22 ZB26  
ZC33  
4C087 AA01 AA02 BB15 CA14 NA14  
ZA70 ZB09 ZB22 ZB26 ZC33  
4C090 AA09 BA46 BA47 BA91 BC28  
DA09 DA23 DA27